

转铁蛋白受体和免疫球蛋白 A/M Fc 受体并非人系膜细胞主要的 IgA₁ 受体*

胡瑞海, 赵明辉[△], 张颖, 王海燕

(北京大学第一医院肾内科暨北京大学肾病研究所, 北京 100034)

[摘要] 目的: 探讨转铁蛋白受体(TfR)和免疫球蛋白A/M Fc受体(Fcα/μR)是否为人系膜细胞(HMC)主要的免疫球蛋白A(IgA)受体。方法: 亲和层析提取血清IgA₁, 热聚合并用¹²⁵I标记, RT-PCR法检测TfR与Fcα/μR mRNA在HMC及人系膜细胞系(HMCL)中的表达, 放射配基结合法检测聚合IgA₁(aIgA₁)与HMCL的结合动力学特征, Western blot方法观察IgAN患者aIgA₁与正常人aIgA₁刺激HMCL引起的细胞外信号调节激酶(ERK)蛋白磷酸化水平的异同。结果: TfR和Fcα/μR mRNA在原代培养的HMC均有表达, 在HMCL未见表达。aIgA₁与HMCL之间的结合具有特异性和饱和性, 最高结合量为(496.7±200.3) fmol/10⁵细胞, 结合位点为(3.0±1.2)×10⁶/细胞, 解离常数Kd值为(6.4±1.7)×10⁻⁷ mol/L。IgAN患者aIgA₁与正常人aIgA₁均呈时间依赖性诱导ERK蛋白磷酸化, 但IgAN患者aIgA₁的作用明显强于正常人aIgA₁(P<0.01), 且持续时间更长(P<0.05)。结论: HMCL细胞存在特异性IgA₁受体, 但该受体并非TfR和Fcα/μR。

[关键词] 免疫球蛋白A; 系膜细胞系; 受体, 转铁蛋白; 受体, Fcα/μ

[中图分类号] R363 **[文献标识码]** A

IgA肾病(immunoglobulin A nephropathy, IgAN)的病理特点是肾小球系膜细胞(mesangial cell, MC)增殖及系膜区基质增加, 并在系膜区和/或肾小球毛细血管袢出现以多聚IgA₁(pIgA₁)为主的免疫球蛋白及补体成分的沉积^[1], 但其发病机理目前仍不十分清楚。近年来, IgA与系膜细胞IgA受体之间的受体-配体效应在IgAN的发病机理中所起的作用开始受到重视。已有研究证实, 正常人IgA₁与肾小球MC的结合具有特异性和饱和性^[2-4], 二者结合可以引起多种生物学效应^[5-8], 并且IgAN患者IgA₁所引起的生物学效应较正常人IgA₁强^[9]。

近年研究的人系膜细胞IgA₁受体有如下几种: IgA Fc受体(FcαR1/CD89)^[3]、去唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGPR)^[4]、多聚免疫球蛋白受体(pIg-R)^[10]、转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR/CD71)^[11,12]及IgA/IgM Fc受体(Fcα/μR)^[13]。上世纪90年代后期的研究已经证实系膜细胞不表达FcαR1 ASGPR及pIg-R^[10], 而TfR和Fcα/μR在IgAN发病机理中所起的作用仍有待于进一步证实。本实验拟通过观察TfR和Fcα/μR mRNA在原代培养

的系膜细胞及系膜细胞系的表达情况, IgA₁与系膜细胞系细胞的结合动力学特征, 并比较IgAN患者及正常人IgA₁刺激系膜细胞系细胞所产生的生物学效应的异同, 初步验证TfR及Fcα/μR是否为系膜细胞主要的IgA受体。

材 料 和 方 法

1 病例及正常人选择

新近经肾活检证实为IgAN住院患者中选取10人, 取血时均处于疾病活动期, 即临床上出现血尿和(或)蛋白尿, 或者血尿和(或)蛋白尿增加, 未使用激素或细胞毒药物。其中病理表现为系膜增生性肾小球肾炎5例, 毛细血管内增生性肾小球肾炎1例, 局灶增生性肾小球肾炎2例, 新月体性肾小球肾炎2例。健康献血者10人作为正常对照, 近3个月无呼吸道、胃肠道等粘膜感染史。

2 主要试剂

胎牛血清FCS(Gibco公司), 胰岛素-转铁蛋白-亚硒酸钠细胞培养添加剂(insulin-transferrin-sodium selenite media supplement, ITS, Sigma公司), jarcalin(Pierce公司), 蜜二糖(Fluka公司)。兔抗人ERK多克隆抗体、大鼠抗人磷酸化ERK单克隆抗体(Sar-tacruz公司)为第一抗体。辣根过氧化物酶标记的羊抗兔和羊抗大鼠IgG(北京中山生物技术公司)为第二抗体。发光试剂盒(Du Pont公司), 感光胶片(Ko-

[收稿日期] 2003-07-08 [修回日期] 2003-09-23

* [基金项目] 教育部教育振兴行动计划(985工程)专项基金资助项目

△通讯作者 Tel: 010-66171122-2562; E-mail: mhzhao@bjmu.edu.cn

dak 公司)。Trizol(Gibco 公司), 逆转录试剂盒及 Taq DNA 聚合酶(Promega 公司), 人 Fc α / μ R 和 TIR 的 PCR 引物(上海博亚生物公司)。Iodogen 及[Na¹²⁵I](Sigma 公司)。

3 方法

3.1 细胞培养 正常人 HMC 原代培养按照本所建立的方法^[14], 并经形态学、免疫学和功能学实验鉴定, 本实验使用第 3-5 代细胞。人系膜细胞系购自法国 Clonetics Corp 公司, 培养液中加入 ITS。

3.2 正常人及 IgAN 患者 IgA₁ 的提取、聚合 采用 Jacalin 亲和层析联合分子筛过滤, 过程如下: 健康人及 IgAN 患者血清, 上样 Jacalin 亲和层析柱, 孵育 30 min, 175 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5) 缓冲液洗柱, 0.1 mol/L 蜜二糖/175 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5) 洗脱, 洗脱液蛋白即为 IgA₁。洗脱液经超滤器浓缩后上样 Sephacryl S-200 分子筛过滤柱, 0.05 mol/L PB/0.15 mol/L NaCl/0.02% NaN₃ 缓冲液 (pH 7.0) 洗脱, 于第 97 mL 和 106 mL 处得到两个峰, 分别为聚合 IgA₁ (p-IgA₁) 和单体 IgA₁ (mIgA₁)。取 mIgA₁ 于 63 °C 孵育 150 min, 冰冷却, 4 °C, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清蛋白再次上样 Sephacryl S-200 分子筛层析柱, 在洗脱至 97 mL 时得到单一峰, 证实 mIgA₁ 被加热聚合为热聚合 IgA₁ (aIgA₁)。

3.3 aIgA₁ 的 [¹²⁵I] 标记 采用 Iodogen 法, 过程如下: 在 Iodogen 反应瓶中加入 aIgA₁、[Na¹²⁵I] 和磷酸盐缓冲液, 室温下振动反应约 10 min, 将反应液上样 Sephadex G-50 柱行凝胶过滤, 用 0.05 mol/L PB/0.1 mol/L NaCl 缓冲液 (pH 7.4) 洗脱, 收集洗脱液并测定其放射性计数。反应液和洗脱液均用新华 1# 层析纸层析, 在放射性薄层扫描仪上测量放射性计数, 计算其放射性标记率在 60% - 70%, 放化学纯度在 90% - 95%, 放化纯度为 (2.22-2.96) × 10¹⁰ Bq/g。

3.4 Fc α / μ R 和 TIR mRNA 在原代培养的系膜细胞及系膜细胞系中的表达 第 3-5 代原代培养的系膜细胞(或系膜细胞系)在 60 mm 培养皿上培养至 80% 铺满, 0.5% FCS 的培养液 24 h 使之同步于 G₀ 期。用 TNF α -0.5% FCS 10 μ g/L、正常人 aIgA₁-0.5% FCS 100 mg/L、IgAN 患者 aIgA₁-0.5% FCS 100 mg/L、正常人 aIgA₁ 100 mg/L+TNF α 10 μ g/L 及 IgAN 患者 aIgA₁ 100 mg/L+TNF α 10 μ g/L 刺激细胞不同时间。按 Trizol 试剂盒方法提取细胞总 RNA, 逆转录反应体系合成 cDNA, 随后进行 PCR 扩增。Fc α / μ R 引物序列: 上游引物 5' - GAC AAC TAC CAA GGC TGA TAG G-3', 下游引物 5' - TCT GTC CCT CAG GGT CCT GGA T-3'; 反应条件: 预变性 94 °C × 5 min; 变

性 94 °C × 0.5 min, 退火 58 °C × 1 min, 扩增 72 °C × 1 min, 循环 35 次; 最后延伸 72 °C × 10 min, 4 °C 终止。TIR 引物序列: 上游引物 5' - TAT CTG CTA TGG GAC TAT TGC-3', 下游引物 5' - CGC CAC ATA ACC CCC AGG ATT-3'; 反应条件: 预变性 94 °C × 5 min; 变性 94 °C × 0.5 min, 退火 55 °C × 1 min, 扩增 72 °C × 1 min, 循环 35 次; 最后延伸 72 °C × 10 min, 4 °C 终止。反应结束后, PCR 产物行琼脂糖凝胶电泳。

3.5 aIgA₁ 与系膜细胞系结合力的分析 采用放射性配基结合法。人系膜细胞系(human mesangial cell line, HMCL)细胞在 24 孔培养板培养 36 h 后铺满, 共 36 孔。取其中 4 孔进行细胞计数。余 32 孔用预冷的 0.5% BSA-PBS 洗 3 遍, 分为非特异结合(nonspecific binding, NSB)和总结合(total binding, TB)两组, 分别加入非标记的 aIgA₁/PBS-0.5% BSA 和 PBS-0.5% BSA, 4 °C 预孵育 60 min, 冷 PBS-0.5% BSA 洗 3 遍, 单独加入 [¹²⁵I]-aIgA₁/PBS-0.5% BSA 液或同时加入浓度逐渐加大的非标记 aIgA₁, 4 °C 再次孵育 60 min 冷 PBS-0.5% BSA 洗 3 遍, 加入 1.0 mol/L NaOH 500 μ L, 4 °C 孵育 10 min 后收集细胞裂解液, 测定放射性计数, 制作饱和曲线及 Scatchard 图。

3.6 竞争抑制实验 HMCL 细胞在 6 孔培养皿共 9 孔用 10% FCS 的培养液孵育 24 h 铺满, 冷 PBS-0.5% BSA 洗 3 遍, 分为 3 组, 每组 3 孔, 分别加入 PBS (空白对照)、BSA-PBS (30 mg/L) 及非标记的 aIgA₁ (30 mg/L), 4 °C 预孵育 60 min, 冷 0.5% BSA-PBS 洗 3 次, 加入含 [¹²⁵I]-aIgA₁ 的 aIgA₁-PBS (10 mg/L), 再次于 4 °C 孵育 60 min, 以 1.0 mol/L 的 NaOH 500 μ L 裂解细胞, 收集并测定其放射性计数。以 PBS 抑制率为 0%, aIgA₁ 抑制率为 100%, 计算 BSA 对 aIgA₁ 与 HMCL 结合的相对抑制率。

3.7 正常人 IgA₁ 与 IgAN 患者 IgA₁ 刺激情况下, 系膜细胞系 ERK 蛋白磷酸化的比较 以 Western blot 方法检测。系膜细胞系细胞在 35 mm 培养皿培养 24 h 至 80% 融合, 用含 0.5% FCS 的培养液孵育 24 h, 使细胞同步于 G₀ 期。分别加入正常人 aIgA₁ 100 mg/L 及 IgAN 患者 aIgA₁ 100 mg/L 刺激, 以 BSA 为空白对照, 选取 5、15、30 及 60 min 时间点观察。用预冷的 PBS 洗 3 遍, 加入细胞裂解液 150 μ L 裂解细胞, 4 °C, 12 000 r/min 离心 10 min, 留取上清为样品, Bradford 法测定蛋白浓度。将含等量蛋白的样品变性后, 以 10% SDS-PAGE 凝胶恒流电泳并电转移至硝酸纤维素膜, 经封闭、洗膜, 分别用兔抗人 ERK 多克隆抗体或大鼠抗人磷酸化 ERK 单克隆抗体(均为 1:2 000)于室温下孵育 2 h, 洗膜后再分别用辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 或羊抗大鼠 IgG(均为 1:5 000)室

温下孵育 60 min, 随后与化学发光试剂作用适当时间, 感光胶片曝光后显影、定影。电泳条带经扫描进行相对定量。

4 统计学处理

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均数比较采用 SPSS 11.0 软件中独立样本均数 *t* 检验或单因素方差分析进行统计。饱和曲线及 Scatchard 作图应用 Excel 作图及直线回归分析。

结 果

1 Fc α / μ R 和 TfR mRNA 在原代培养的系膜细胞及系膜细胞系中的表达

原代培养的系膜细胞可表达 Fc α / μ R 和 TfR mRNA, 而在系膜细胞系细胞中二者均未见表达, 用 TNF α 、正常人 aIgA₁、IgAN 患者 aIgA₁ 分别及合并 TNF α 刺激 1 3 6、12 24 h, 均未见表达, 见图 1 2。

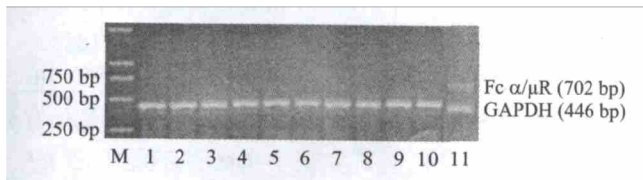


Fig 1 Expression of Fc α / μ R mRNA in primary cultured human mesangial cells (HMC) and human mesangial cell line (HMCL) were investigated by RT-PCR assay. M: marker; Lane 1- 5: HMCL incubated with TNF α , aIgA₁- Nor, aIgA₁- Pat, TNF α + aIgA₁- Nor and TNF α + aIgA₁- Pat for 1 h, respectively; Lane 6- 10: HMCL incubated with TNF α , aIgA₁- Nor, aIgA₁- Pat, TNF α + aIgA₁- Nor and TNF α + aIgA₁- Pat for 24 h, respectively; Lane 11: HMC as control.

图 1 Fc α / μ R mRNA 在原代培养的系膜细胞及系膜细胞系中的表达



Fig 2 Expression of TfR mRNA in HMC and HMCL were investigated by RT-PCR assay. M: marker; Lane 1- 5: HMCL incubated with TNF α , aIgA₁- Nor, aIgA₁- Pat, TNF α + aIgA₁- Nor and TNF α + aIgA₁- Pat for 3 h, respectively; Lane 6- 10: HMCL incubated with TNF α , aIgA₁- Nor, aIgA₁- Pat, TNF α + aIgA₁- Nor and TNF α + aIgA₁- Pat for 12 h, respectively; Lane 11: HMC as control.

图 2 TfR mRNA 在原代培养的系膜细胞及系膜细胞系中的表达

2 aIgA₁ 与系膜细胞系的结合力的分析

正常人 aIgA₁ 与系膜细胞系细胞的结合呈剂量依赖性和饱和性, 最高结合量为 (496.7 \pm 200.3) fmol/10⁵细胞, 其结合在 aIgA₁ 浓度约 400 nmol/L 时趋于饱和。细胞上的 aIgA₁ 结合位点为 (3.0 \pm 1.2) \times 10⁶/细胞。Scatchard 作图所得解离常数 Kd 值为 (6.4 \pm 1.7) \times 10⁻⁷ mol/L, 见图 3、图 4。

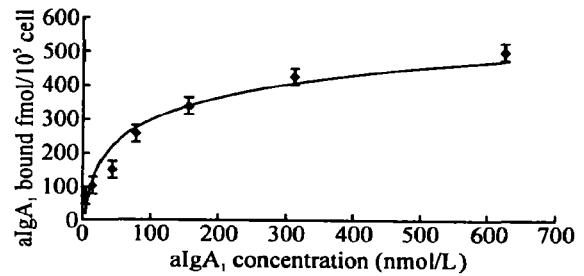


Fig 3 aIgA₁ binding to human mesangial cell line. $\bar{x} \pm s$. n = 7.

图 3 aIgA₁ 与 HMCL 结合饱和曲线

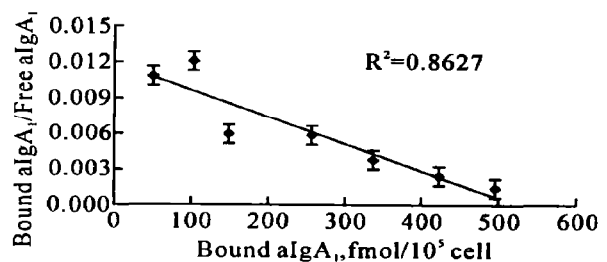


Fig 4 Scatchard plot. $\bar{x} \pm s$. n = 7.

图 4 aIgA₁ 与 HMCL 结合 Scatchard 图

3 aIgA₁ 与 HMCL 结合特异性

PBS、BSA 及未标记的 aIgA₁ 分别与 HMCL 细胞预孵育后, 再用 [¹²⁵I] 标记的 aIgA₁ 与细胞孵育 1 h, 3 组的 aIgA₁ 结合量分别为 (29.60 \pm 0.82) fmol、(27.70 \pm 0.86) fmol 和 (4.60 \pm 1.00) fmol。以 PBS 抑制率为 0%, aIgA₁ 抑制率为 100%, 计算 BSA 对 aIgA₁ 与 HMCL 结合的相对抑制率为 (7.2 \pm 3.4)%, 显著低于 aIgA₁ 抑制组 (*P* < 0.01), 见图 5、图 6。

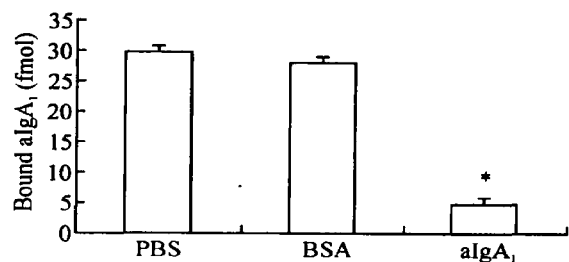


Fig 5 Specificity of aIgA₁ binding to HMCL. $\bar{x} \pm s$. n = 7. * *P* < 0.01 vs PBS and BSA.

图 5 aIgA₁ 与 HMCL 结合特异性

4 ERK 蛋白磷酸化的比较

如图 7 所示, 正常人及患者 aIgA₁ 均呈时间依赖性诱导 ERK 蛋白磷酸化, 均在孵育 30 min 达到高峰, 而患者 aIgA₁ 的效应明显高于正常人 aIgA₁, 两者差异显著 ($P < 0.01$)。患者 aIgA₁ 诱导的 ERK 蛋白磷酸化在 60 min 时仍保持较高水平 ($P < 0.05$)。

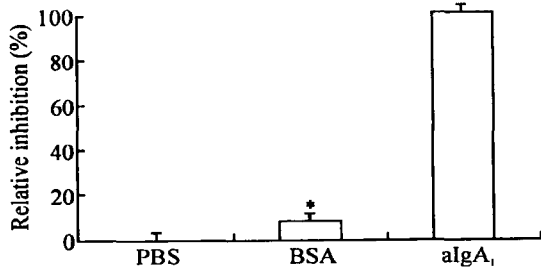


Fig 6 Specificity of aIgA₁ binding to HMCL. $\bar{x} \pm s$, $n = 7$. * $P < 0.01$ vs aIgA₁.

图 6 aIgA₁ 与 HMCL 结合特异性

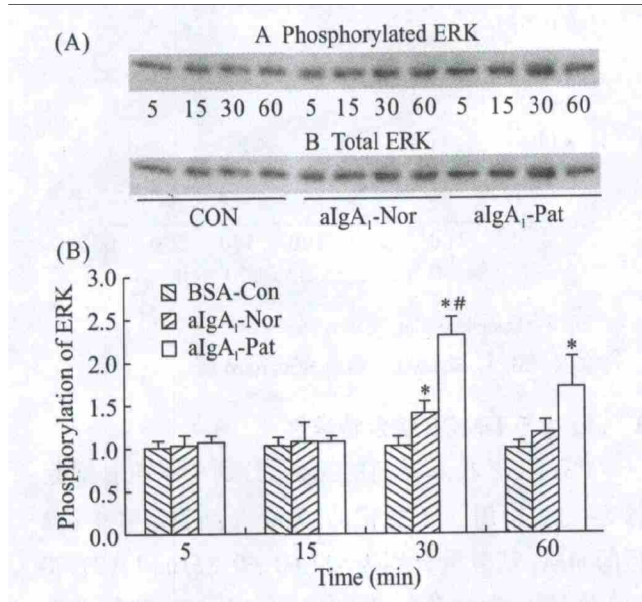


Fig 7 Phosphorylation of ERK in HMCL stimulated by BSA, aIgA₁-Nor, aIgA₁-Pat at 5, 15, 30 and 60 min, respectively. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$. * $P < 0.05$ vs BSA-Con; # $P < 0.05$ vs aIgA₁-Nor. (A) The result of Western blot; (B) The statistic assay of the phosphorylation of ERK.

图 7 BSA、正常人及 IgAN 患者 aIgA₁ 刺激 HMCL, ERK 蛋白磷酸化

讨 论

IgAN 是最常见的肾小球疾病, 发病率约占原发性肾小球肾炎的 25% - 33%, 10- 20 年长期随访证实, 其中约 1/3 的患者最终发展为终末期肾功能衰竭^[15]。关于 IgAN 的发病机理, 早先的研究认为抗原-抗体反应介导的免疫炎症损伤在 IgAN 的发病机

理中起主要作用。而近年的研究发现, IgA₁ 可以通过细胞的特异受体, 直接活化体外培养的系膜细胞并引起类似于 IgAN 的病理生理反应, 并且 IgAN 患者 IgA₁ 的作用较正常人 IgA₁ 强^[9], 因而 IgA 与系膜细胞特异受体之间的受体-配体效应在 IgAN 的发病机理中所起的作用开始受到重视。近年关于肾小球系膜细胞 IgA 受体的研究已经证实系膜细胞不表达 FcαR1、ASGPR 及 pIg-R。Moura 等^[11, 12]报道在人系膜细胞有 TfR 表达, 可以与 IgA₁ 结合, 转铁蛋白及 TfR 的特异单抗 A24 对这种结合具有阻断作用, 免疫组化证实肾小球系膜区有 IgA₁ 与 TfR 的共沉积。但该研究发现 TfR 与 mIgA₁ 结合的能力较 pIgA₁ 强, 这与 IgAN 肾小球系膜区主要为 pIgA₁ 沉积不符。此外, TfR 广泛表达于分裂增殖细胞中, 而其它细胞并不能与 IgA 特异结合, 何种因素使系膜细胞上的 TfR 可与 IgA₁ 特异结合目前仍不明了。McDonald 等^[13]证实在人系膜细胞有 Fcα/μR mRNA 表达, 转染 Fcα/μR cDNA 后的 COS-7 细胞具有与 IgA 结合的能力。但 Fcα/μR 除可以与 IgA 结合外, 也可与 IgM 结合, 但 IgAN 的病理特征为 pIgA₁ 在系膜区沉积, 并不总伴有 IgM 共沉积, 并且已有研究证实 IgM 并不能阻断 IgA 与 MC 之间的特异结合。因而 TfR 与 Fcα/μR 是否为系膜细胞主要的 IgA 受体及其在 IgAN 的发病机理中所起的作用仍有待于进一步研究。

本实验证实 TfR 与 Fcα/μR mRNA 在原代培养的系膜细胞表达, 在系膜细胞系未见表达, 但放射性配体结合实验表明 HMCL 细胞仍可与 aIgA₁ 结合, 并且这种结合具有受体-配体结合特征。与国外相关研究及本实验室的前期工作相比, aIgA₁ 与 HMCL 细胞原代培养 HMC 结合的动力学特征在结合位点、最大结合量、解离常数 K_d 值比较, 无显著差别。说明在缺乏 TfR 和 Fcα/μR 的情况下, aIgA₁ 仍可与人系膜细胞特异结合, 提示系膜细胞真正的特异性 IgA₁ 受体可能仍未被发现。

我们在前期工作和本研究中均反复证实, IgAN 患者的 aIgA₁ 较正常人 aIgA₁ 与 MC 结合时具有更强的亲和力^[9], 且可引起更大的生物学效应, 提示患者 IgA₁ 分子结构本身可能存在异常, 而这种结构异常可以影响受体-配体之间的结合。由于国外许多研究工作已经证实 IgAN 患者 IgA₁ 铰链区存在糖基化异常, 进一步研究明确患者的 IgA₁ 分子糖基化异常的确切结构, 有可能为研究该未知的 IgA₁ 受体提供新的线索。

[参 考 文 献]

[1] Lomax Smith JD, Zabrowany LA, Howarth GS, et al. The

- immunochemical characterization of mesangial IgA deposits [J]. *Am J Pathol*, 1983, 113(3): 359– 364.
- [2] Gómez- Guerrero C, Gonzalez E, Egido J, et al. Evidence for a specific IgA receptor in rat and human mesangial cells [J]. *J Immunol*, 1993, 151(12): 7171– 7181.
- [3] Gómez- Guerrero C, Duque N, Egido J, et al. Mesangial cells possess an asialoglycoprotein receptor with affinity for human immunoglobulin A [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1998, 9(4): 568– 576.
- [4] Diven SC, Cafisch CR, Hammond DK, et al. IgA induced activation of human mesangial cells: Independent Fc α R1 (CD89) [J]. *Kidney Int*, 1998, 54(3): 837– 847.
- [5] Duque N, Gómez- Guerrero C, Egido J, et al. Interaction of IgA with Fc alpha receptors of human mesangial cells activates transcription factor nuclear factor- kappa B and induces expression and synthesis of monocyte chemoattractant protein- 1, IL- 8, and IFN- inducible protein [J]. *J Immunol*, 1997, 159(7): 3474– 3482.
- [6] Gómez- Guerrero C, Duque N, Egido J, et al. Stimulation of Fc α receptors induces tyrosine phosphorylation of phospholipase C γ , phosphatidylinositol phosphate hydrolysis, and Ca²⁺ mobilization in rat and human mesangial cells [J]. *J Immunol*, 1996, 156(11): 4369– 4376.
- [7] Gómez- Guerrero C, Lopez- Armada MJ, Gonzalez E, et al. Soluble IgA and IgG aggregates are catabolized by cultured rat mesangial cells and induce production of TNF- alpha and IL- 6, and proliferation [J]. *J Immunol*, 1994, 153(11): 5247– 5255.
- [8] Van Den Dobbelen EA, Van Den Wonde FJ, Schroeijers GM, et al. Binding of dimeric and polymeric IgA to rat renal mesangial cells enhances the release of interleukin 6 [J]. *Kidney Int*, 1994, 46(2): 512– 519.
- [9] 王 悦, 赵明辉, 章友康, 等. IgA 肾病患者血清 IgA₁ 与正常人肾小球系膜细胞结合动力学研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(9): 1101– 1104.
- [10] Leung JC, Tsang AW, Chan DT, et al. Absence of CD89, polymeric immunoglobulin receptor, and asialoglycoprotein receptor on human mesangial cells [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2000, 11(2): 241– 249.
- [11] Moura IC, Centelles MN, Michelle AF, et al. Identification of the transferrin receptor as a novel immunoglobulin (Ig) A₁ receptor and its enhanced expression on mesangial cells in IgA nephropathy [J]. *J Exp Med*, 2001, 194(4): 417– 425.
- [12] Haddad E, Moura IC, Arcos- Fajardo M, et al. Enhanced expression of the CD71 mesangial IgA₁ receptor in Berger disease and Henoch- Schonlein nephritis: Association between CD71 expression and IgA deposits [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(2): 327– 337.
- [13] McDonald KJ, Cameron Angus JM, Allen JM, et al. Expression of Fc α/μ receptor by human mesangial cells: A candidate receptor for immune complex deposition in IgA nephropathy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290(1): 438– 442.
- [14] 谌贻璞, 高 进, 王海燕. 肾小球系膜细胞培养 [J]. *北京医科大学学报*, 1989, 21(4): 335– 336.
- [15] D' Amico G. The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy [J]. *Q J Med*, 1987, 64(245): 709– 727.

Transferrin receptor and Fc α/μ receptor are not the major IgA₁ receptor on human mesangial cells

HU Rui- hai, ZHAO Ming- hui, ZHANG Ying, WANG Hai- yan

(Renal Division, The First Hospital & Institute of Nephrology, Peking University, Beijing 100034, China)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate whether transferrin receptor (TfR) and Fc α/μ R are the major IgA₁ receptor on human mesangial cells (HMC). **METHODS:** Serum IgA₁ was isolated by jacalin affinity chromatography and heated to aggregated form (aIgA₁). RT- PCR was performed to investigate the expression of TfR mRNA and Fc α/μ R mRNA. Binding capacity of aIgA₁ to human mesangial cell line (HMCL) was evaluated by radio- ligand binding assay. Binding specificity was determined by competitive inhibition assay and phosphorylation of extracellular signal- regulated kinase (ERK) was determined by Western blot. **RESULTS:** TfR cDNA and Fc α/μ R cDNA products were amplified from HMC but not from HMCL. aIgA₁ was found to bind to HMCL in a dose- dependent, saturable manner and the binding was inhibited by BSA. Scatchard analysis revealed a K_d of $(6.4 \pm 1.7) \times 10^{-7}$ mol/L and the binding sites were $(3.0 \pm 1.2) \times 10^6$ /cells. Both aIgA₁ from patients with IgAN and healthy controls were able to induce the phosphorylation of ERK in a similar time- dependent manner, but the effect of aIgA₁ from patients with IgAN was much stronger ($P < 0.01$) and the duration was much longer ($P < 0.05$) than those from healthy controls. **CONCLUSION:** There might be a novel IgA₁ receptor on HMCL, but TfR and Fc α/μ R are not the major candidates.

[KEY WORDS] Immunoglobulin A; Mesangial cell line; Receptors, transferrin; Receptors, Fc α/μ